Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. F. Haffner

Chemische Reizversuche an Amoeben

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

HERMANN GLUNS

aus Rottweil

1938

Buchdruckerei Albert Becht, Tübingen, Hirschgasse 16

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

Dekan: Prof. Dr. Usadel

Berichterstatter: Prof. Dr. Haffner

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dem Andenken meiner Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549610_0130

Für unsere Vorstellung über den Wirkungsmechanismus der einzelnen Pharmaka ist es von grundlegender Bedeutung, ihre Wirkung auf einzelne Zellen zu kennen. Man wird allerdings an den für solche Untersuchungen in Frage kommenden Versuchsobjekten Blutkörperchen, Amoeben usw. gegenüber dem mehrzelligen, differenzierten Organismus hauptsächlich Wirkungen von universeller und unspezifischer Art erwarten dürfen. Vielfach wird man jedenfalls im akuten Versuch eine Substanz erst dann wirksam finden, wenn die Konzentration nahe der letalen liegt oder gar den Zelltod bedingt. Aber auch in diesen Fällen kann die Art und Weise, wie dabei die Zelle verändert wird, einen Rückschluß auf den Wirkungscharakter des zu untersuchenden Stoffes zulassen.

Die folgenden Untersuchungen hatten es sich zur Aufgabe gemacht, die Wirkungsweise verschiedener pharmakologischer Substanzgruppen an der Amoebe zu beobachten. Alle Versuche dauerten relativ kurz (höchstens bis zu einigen Tagen Beobachtungszeit); Wachstums- und Vermehrungsvorgänge konnten daher nicht festgestellt werden. Wir beschränkten uns auf die mikroskopisch erfaßbaren Veränderungen der äußeren Form, des Protoplasmazustandes, der Art und Intensität der Fortbewegung und Protoplasmaströmung und sonstiger Zustandsänderungen.

Methode

Versuchsobjekt.

Als Versuchsobjekt diente uns Amoeba proteus. Um stets gleichartige Amoeben zu den Untersuchungen zu verwenden, wurde der Stamm, den wir dem Zoologischen Institut in Tübingen verdanken, in Petri-Schalen weitergezüchtet. Die Nährlösung setzte sich zusammen aus 1 ccm 10%ige NaCl, 0,4 ccm 1%iges KCl und 0,6 ccm 1%iges $CaCl_2$ auf 1000 ccm bidestilliertes Wasser. Jeder

Petri-Schale wurden noch 5—6 Reiskörner zugesetzt. Etwa 14 Tage dauerte es, bis sich feststellen ließ, ob in der neuen Kultur eine Vermehrung stattgefunden hatte oder nicht. Nach weiteren 4—6 Wochen ging die Kultur langsam wieder ein. Zur chemischen Beeinflussung wurden die Amoeben nur zwischen der 3. bis 5. Woche nach der Ueberpflanzung verwendet, da sie sich in dieser Zeit am besten zu den Versuchen eigneten. Die Wasserstoffionenkonzentration der angegangenen Kultur stellte sich regelmäßig zwischen pH 4,0 und 4,5 ein.

Untersuchungsmethode: Die einzelnen Versuche wurden in hohlgeschliffenen Objektträgern, wie sie sonst zur Anlegung von Gewebskulturen verwendet werden, vorgenommen. Dabei wurden zunächst in einem Tropfen möglichst viele Amoeben auf den Objektträger gegeben. Nachdem diese sich von der Erschütterung beim Uebertragen wieder erholt hatten, wurden seitlich 2 gleichgroße Tropfen des zu untersuchenden Mittels zugefügt. Waren die Versuche derart kurzdauernd, daß die stetige Wasserverdunstung keine Rolle spielte, so wurde von der Anbringung eines Deckglases abgesehen. Nur bei längerer Beobachtungsdauer wurde ein mit Vaseline luftdicht abschließendes Deckglas aufgelegt. Durch Umwenden des Objektträgers wurden die Tropfen auf das Deckglas gebracht. Ein Sauerstoffmangel ließ sich auch nach längerer Zeit bei Probeversuchen nicht erkennen. Nach Hulpieu hat sogar eine ziemlich starke Herabsetzung der Sauerstoffspannung keine wesentliche Bedeutung. Auch eine Zunahme der Kohlensäurespannung infolge des Abschlusses konnte keinen Einfluß haben, da die an sich sehr kohlensäurereiche Nährlösung durch die zugegebenen Lösungstropfen verdünnt wurde. Es wurde auch sorgfältig darauf geachtet, daß die Versuche stets unter denselben physiologischen Bedingungen vorgenommen wurden. Wie aus den Arbeiten von Folger, Heilbrunn, Mast und anderen hervorgeht, können Licht, Temperatur, Beschaffenheit des Aufnahmegegenstandes die Ergebnisse mehr oder weniger ändern. Die folgenden Konzentrationsangaben beziehen sich auf die zugegebenen Tropfen.

Versuche

Zum Verständnis der folgenden Beobachtungen muß noch kurz auf die Physiologie und Struktur der Amoeben eingegangen werden.

Die Erscheinungsformen der Amoeba proteus werden von Verworn eingeteilt in eine Amoeba limax- und eine Amoeba radiosa-Form. Diese beiden Typen stehen in engem Zusammenhang mit der Art der Bewegung. In bezug auf die Fortbewegung kann der plumpe Limax-Typ auch als Bewegungsform, der feingliedrige Radiosa-Typ als Ruhe- oder Schwebeform bezeichnet werden. Für eine aktive Ortsveränderung ist außerdem die Haftfähigkeit an der Unterlage Voraussetzung. Weiterhin spielt die Form des Oberflächenminimums, die Kugelform, eine Rolle, die nach Verworn bei „dissimilatorischen" Einwirkungen auftreten soll; wir werden ihr bei den folgenden Versuchen häufig begegnen.

Das Protoplasma der Amoebe teilt Rhumbler ein in Endoplasma und Ectoplasma. Mast baute diese Anschauung noch weiter aus und unterscheidet bei der sich bewegenden Amoeba proteus folgende Strukturen:

1. Eine zentrale, flüssigere Portion (Plasmasol);

2. eine die flüssige Masse umgebende, festere Masse (Plasmagel);

3. eine sehr dünne, elastische Oberflächenmembran (Plasmalemma).

Das Plasmasol enthält eine von dem Alter der betreffenden Amoebe abhängige Granulazahl, Cristalle, Nahrungs- und Wasservacuolen und den Kern. Der innere, granulierte Teile des Plasmagels (Granuloplasma) bildet zusammen mit dem Plasmasol das Endoplasma (Endosark), der hyaline, äußere Teile des Plasmagels mit dem Plasmalemm das Ectoplasma (Ectosark). Wird ein Pseudopodium gebildet, geht das Granuloplasma an der Stelle der Aus-

lösung in den Solzustand über. Gleichzeitig soll aber auch das hyaline Plasmagel einen gewissen Schwund seiner Viskosität erfahren. An dieser Stelle herabgesetzter Oberflächenspannung wird durch die Kontraktion des übrigen Plasmagels das Plasmasol zum Vorwärtsströmen gebracht. Am Vorderende des Pseudopodiums erfolgt dann wiederum eine Umwandlung des Plasmasol in den Plasmagelzustand. Das semipermeable Plasmalemm habe für die Plasmaströmung selbst keine Bedeutung und diene zur Anheftung an die Unterlage.

Eine Störung dieser Ecto-Endoplasma-Verhältnisse konnten wir bei der „alternden" Amoebe (Tiere alter Kulturen) beobachten. Die Amoeben verloren die Fähigkeit der Pseudopodienbildung und damit der Ortsveränderung, Hand in Hand mit einer Zunahme der Größe und Menge der Plasmagranula. Diese starke Granulaanhäufung schien die Umwandlung des Granulaplasmas in das Plasmasol nicht mehr zuzulassen, was auch in der ganz schwachen Plasmaströmung zum Ausdruck kam.

Versuche mit Na Cl.

0,3%—0,6%-Lösung: Nach Zugabe der Salzlösung geben die Amoeben die zunächst eingenommene Schwebeform rasch auf, heften sich an der Unterlage an und beginnen in Limaxform eine rege Ortsveränderung aufzunehmen.

Fünf Stunden später sehen wir nicht mehr die monopodiale Limax-Form, sondern eine fingerförmige Aufspaltung in mehrere Pseudopodien. Dabei ist die Plasmaströmung ruckartig (Wirkungstypus 1).

Am 2. Tage beobachten wir Formen, die mit den von Spek in salzreicher Kulturlösungen erhaltenen Geweihformen mit den sogenannten Schlauchpseudopodien identisch sind. Die Plasmaströmung ist sehr matt. Haftfähigkeit ist keine mehr vorhanden (Wirkungstypus 2). Die Pseudopodien beginnen von beiden Seiten nach der Mitte einzuschmelzen und bilden an beiden Enden kolbige Auftreibungen mit Granulahaufen. Die Plasmaströmung ist nur noch ganz träge (Wirkungstypus 3).

Die beiden seitlichen Granulahaufen vereinigen sich zu einem dicken, undurchsichtigen Klumpen, um den sich noch ein dünner

Saum homogenen Plasmas legt (Wirkungstypus 4): „Salzendzuzustand".

0,75—0,9 % Lösung: Diese Konzentration führt sofort zum Typ 2 und bringt das 1. Stadium nicht mehr deutlich zum Ausdruck.

1—2 % Lösung: Die Austreibung von Pseudopodien bleibt im Beginn stecken, die Plasmagranula verklumpen sich, und es bleibt nur noch ein Saum ganz kleiner, homogener Pseudopodien zurück, der auch bald schwindet.

Bringen wir Typ 3 und 4 in Nährlösung zurück, tritt Quellung und Auflösung ein. Typ 2 nimmt eine gequollene, plumpe Form an, und zeigt deutlich eine bleibende Schädigung in der Sol-Gel Umwandlung. Die Plasmaströmung bleibt nämlich matt und ruckartig, setzt sogar zeitweilig ganz aus. Eine sehr große Aehnlichkeit läßt sich demnach mit dem oben beschriebenen Verhalten alter Amoeben feststellen.

Für den höheren Organismus kann das Kochsalz in der Hauptsache als indifferentes Salz angesehen werden, das ev. osmotische Wirkungen auslöst. Die Wirkung an einzelnen, isolierten Zellen (Loeb) oder Amoeben (Reznikoff, Chamblers) lassen aber deutlich erkennen, daß ihm auch spezifische Ionenwirkungen zukommen. Eine solche spezifische Wirkung des Na-Kations ist aber erst bei Konzentrationen über 1% Kochsalz deutlich und nur als Schädigung zu beobachten. Bei niederen Konzentrationen kommt es wie die Erholung der Amoeben in der Nährlösung zeigt, zu keiner Dauerschädigung. Nach den vorliegenden Beschreibungen der osmotischen Wirkungen aequilibrierter Salzlösungen müssen die Wirkungen dieser reversibel wirkenden Konzentrationen als in der Hauptsache osmotisch bedingt angesehen werden.

Die dabei beobachteten Wirkungsbilder lassen sich am besten erklären, wenn man eine Zunahme der Viskosität des Ectoplasmas annimmt; das Endoplasma erscheint dagegen noch flüssiger und beweglicher als normal. In der durch die Wasserentziehung verkleinerten Zelle muß der innere Widerstand zunehmen. So versteht man, daß es schließlich nur noch zu einer stoßartigen Ueberwindung des Ectoplasma-Widerstandes und zu ruckartiger Austreibung der Pseudopodien kommt.

Greift dann der Wasserentzug auch auf das Plasmasol über, schrumpft dieses allmählich vollständig ein. Durch den Wegfall der Expansionsfähigkeit verfällt die stark verdichtete Zelle in die starre Kugelform.

Versuche mit destilliertem Wasser.

Wenn wir in üblicher Weise zu einem Tropfen Nährlösung 2 Tropfen destilliertes Wasser zugeben, führt dies bei an der Unterlage haftenden Tieren zu einer weit ausgezogenen Bandform, bei schwebenden zu einer Andeutung des für reines destilliertes Wasser charakteristischen, besonderen Radiosatypes. Nach anfänglicher Kugelform bilden sich in destilliertem Wasser zahlreiche feine, nach den Enden spitz zulaufende Pseudopodien aus. Die Protoplasmaströmung, die zwar bei allen Radiosaformen etwas langsam ist, beschränkt sich hier auf ganz geringe axiale Verschiebungen. Erst nach 10—12 Stunden ist es möglich, einen Uebergang in die Haft- und Bewegungsform zu beobachten.

Da wir bei Zuckereinwirkungen eine ähnliche Formgebung finden, ist es angebracht, sogleich darauf überzugehen.

Versuche mit Zuckerlösungen.

10 % Zuckerlösung: Im Gegensatz zu der Wirkung der osmotisch gleich starken 0,9 % Na Cl-Lösung bietet sich hier zunächst dasselbe Formenbild wie beim destillierten Wasser. Allmählich erst macht sich die osmotische Wirkung geltend, und es erscheinen den beschriebenen Na Cl-Typen ähnliche Formen.

20 % Zuckerlösung: Diese Lösung wirkt entsprechend einer 1—2 % Na Cl-Lösung. Auch der zeitliche Ablauf ist etwa gleich.

Aus dieser Uebereinstimmung zwischen Zucker und destilliertem Wasser geht hervor, daß die Radiosaform wohl durch Ionenarmut des Außenmediums bedingt ist und mit dem osmotischen Druck selbst nichts zu tun hat. Untersuchungen von Reznikoff, Chamblers usw. haben besonders den einwertigen Kationen einen großen Einfluß auf die Gel-Sol-Umbildung zugeschrieben.

Versuche mit Na OH.

N/100—N/100 Na OH: Das Endoplasma und namentlich das Ectoplasma quellen in einem Grade auf, daß es zur Ruptur des Plasmalemms kommt, wobei sich der kolloidale Zellinhalt in die Außenflüssigkeit ergießt und dort sofort aufgelöst wird.

N/500 Na OH: Die Quellung reicht nicht mehr zur Sprengung des Plasmaleums aus. Es entstehen zwar noch kurze, plumpe Pseudopodien, aber nach einer Stunde sistiert jegliche Plasmaströmung. Die Granula klumpen sich in der Mitte zusammen, umgeben von großen, homogenen Plasmablasen.

N/1000 Na OH: Nach Stunden gesteigerter lebhafter Strömung mit breiten Kuppen am Vorderende der Pseudopodien läßt sich keine degenerative Veränderung wahrnehmen.

Versuche mit H Cl.

N/100—N/300 H Cl: Die Pseudopodien schrumpfen spontan ein, die Granulakörner ballen sich zusammen, und das Ectoplasma legt sich in kurzen, schlaffen Falten darum. Nach einiger Zeit erfolgt Abrundung und Gelbfärbung der Plasmakörner. (Säureendzustand).

N/600 H Cl.: Es setzt eine lebhafte Plasmabewegung ein mit kurzen und schmäleren, aber in ihren homogenen Plasmakuppen die Na OH-Wirkung noch übertreffenden Pseudopodien. Mit zunehmender Strömungsverlangsamung und Schrumpfung der Form geht es im Ablauf von 90 Minuten dem oben beschriebenen Säureendzustand zu.

N/2000 H Cl: Weitgehend gleich der N/1000 Na OH.

Die Versuche mit hohen Konzentrationen lassen deutlich die spezifischen Wirkungen von Säure und Lauge erkennen: Die eiweißkoagulierende der Säure, die lösende der Lauge. Interessanterweise ist dagegen das Verhalten der Amoeben bei einer weniger starken Alkalisierung weitgehend übereinstimmend mit dem bei Säurung entsprechenden Grades. Es scheint darnach eine Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration nach der einen oder andern Richtung die Gel-Sol-Umwandlung in gleicher Weise zu beeinflussen. Es hängt dies vielleicht damit zusammen, daß

auch die physiologischen Plasma-Umwandlungen an eine erhebliche pH-Differenz zwischen Gel- und Sol-Zustand gebunden sind. Nach Messungen von Spek und Chamblers soll dem Ectoplasma ein pH-Wert um 8,0, dem Endoplasma ein solcher um 5,0 zukommen.

Versuche mit Acetat-Puffer.

1. Acetat pH 3,0: starke Säurewirkung (5 Min.).

2. Acetat pH 4,1: Es bildet sich eine Form aus, wie wir sie bisher weder bei Na Cl. noch bei H Cl beobachten konnten, nämlich ein Radiosatyp mit zahlreichen, mittleren Pseudopodien. Dabei ist es aber nicht eine Schwebeform, sondern die Amoebe liegt auf der Unterlage mit normaler Strömung, aber ohne Ortsveränderung (nach 2 Stunden Säureendzustand).

3. Acetat pH 4,7: wie pH 4,1 (nach 8 Stunden Säure-Endzustand).

4. Acetat pH 5,1: anfangs lebhafte Strömung in Limaxform — zunehmende Verdichtung — nach 4 Tagen Salzendzustand.

5. Acetat pH 6,3: nach 18 Stunden Salzendzustand.

Bei Bestimmung der Lebensdauer bei den einzelnen pH's ergibt sich ein Optimum bei pH 5,1. Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Protoplasma in diesem pH-Bereich Puffermöglichkeiten besitzt, die aber vielleicht von der Strömung abhängig sind. Vor allem gefährlich ist eine stärker saure Reaktion des Außenmediums, die rasch zu einer Zellzerstörung führt.

Versuche mit K Cl.

0,3 %—0,5 % K Cl: Die Plasmaströmung wird sofort langsamer. Die Pseudopodien schmelzen langsam ein. Ueber eine annähernd runde, plumpe Form entwickelt sich nach 20—30 Minuten eine absolute Kugelform mit Stillstand jeglicher Plasmaströmung.

0,1 %—0,3 % K Cl: Die Wirkung geht nicht mehr bis zur Kugelform, es bleibt bei der plumpen Form mit zeitweiliger, geringer Protoplasmaverschiebung.

0,1 %—0,05 % K Cl: Hier läßt sich eine leichte Strömungsverminderung feststellen ohne Beeinflussung der Form.

Bei Na Cl wurde eine spezifische (toxische) Wirkung erst über 1 % beobachtet. Bei K Cl ist schon in einer wesentlich schwächeren Konzentration eine spezifische Giftwirkung vorhanden, die somit auf das Kalium-Ion zurückzuführen ist. Die beschriebenen Formen der Amoebe kommen offensichtlich durch eine Verflüssigung des Zellinhaltes, insbesondere auch des Ectoplasmas zustande. Diese Störung nimmt der Amoebe die Fähigkeit, Pseudopodien zu bilden. Das Plasma selbst wird trübe; die Zelloberfläche erhält bei auffallendem Licht einen opaleszierenden Schimmer, infolge eines Vordringens der Granula bis an die Plasmamembran. In Nährlösung tritt sehr rasch Erholung ein; selbst die strömungslose Kugelform ist bei Kaliumwirkung bis 1½ Stunden reversibel. Eine Schädigung zeigt sich wie bei der Säure in einer Gelbfärbung der Granula an.

Versuche mit Narkotika.

Für die Untersuchung der Narkotika der Fettreihe haben wir eine Einteilung in feste und flüchtige Narkotika vorgenommen. Die Lokalanästhetika Novocain und Pantokain werden mit den festen Narkotika abgehandelt.

Feste Narkotika.

Chloral: 1 % Chloral bewirkt eine kurze Erstarrung, der bald eine Wiederaufnahme der Strömung folgt. Die Strömungsgeschwindigkeit ist unterschiedlich, aber im Vergleich zur normalen stark herabgesetzt. Zeigen die Amoeben Kugelform und Strömungsstillstand, ist auch bereits der Zelltod eingetreten (Gelbfärbung).

0,2 % Chloral: Die Strömungsverlangsamung bei plumper Zell-Form ist noch deutlicher als bei 1 % Chloral.

0,05 % Chloral: Es läßt sich noch ein lähmender Einfluß auf die Plasmaströmung feststellen.

Urethan: 5 %—10 %: Nach sofortiger Stillstellung setzt langsam eine zentripetale Strömung ein, die plötzlich beschleunigt zur Abrundung führt.

3 %—1 % Urethan: Zunehmend wird die Strömung langsamer und die Pseudopodienbildung hört auf (Kugelform).

0,5 %—0,1 % Urethan: Aehnlich 0,2 % Chloral und 0,2 % KCl. — nach 24 Stunden höchster Grad der narkotischen Wirkung —.

Novonal: Die schwere Löslichkeit läßt nur die Versuche mit niederen Konzentrationen (bis 1 %) zu. Es zeigt sich in denselben Konzentrationen etwas stärker als Urethan. Auffallend ist die starke Plasmakuppenbildung.

Novokain: Gegenüber Urethan wirkt Novokain rascher, stimmt aber in der Wirkungsweise mit Urethan vollständig überein.

2 %—0,5 % Novokain: gleich 5 %—10 % Urethan.

0,5 %—0,1 % Novokain: gleich 1 %—3 % Urethan.

Pantokain hat eine 15fach stärkere Wirkung als Novokain.

Da uns die Reversibilität dieser narkotischen Wirkungen auch über die Frage, ob und wie lange eine Amoebe ohne jegliche Plasmaströmung leben kann, gewissen Aufschluß verschaffen mag, sollen einige Ergebnisse dieser Versuche in einer Tabelle zusammengestellt werden.

Mittel	Konz.	Z 1	Wirkuugsbild	Z 2	Z 3	Wirkungsbild	R
Urethan	5 %	12 M	Kugelform	—	25 M	Gelbfärbung	—
	3 %	25 M	Kugelform	5 M	25 M	„	—
	1 %	40 M	nahez. Kugelf.	1—2M	4 Std.	„	—
	0,5 %	50 M	plump. Form	sof.	3 Tg.	„	—
	0,3 %	60 M	„ „	„	4 Tg.	gleichbleib.	+
	0,1 %	2 St.	Ström. Verlangs.	„	—	—	+
KCl	0,5 %	25 M	Kugelform	„	40 M	Gelbfärbung	—
	0,2 %	30 M	„	„	90 M	„	—
Novokain	0,3 %	25 M	„	„	2 Std.	„	—

Z 1 = Zeit bis zum Eintritt der nachstehenden Wirkung.
Z 2 = Zeit der Erholungsdauer nach Eintritt der vorstehenden Wirkung.
Z 3 = Zeit bis zur schädigenden Wirkung.
Z 3 — Z 1 = Reversibilitätsspanne
R = Während der Beobachtungszeit stets reversibel.
M = Minuten.

In allen Versuchen außer bei 5 % Urethan, bei dem die Zelle in der Nährlösung platzt, sind die Wirkungen (falls man sie zeitlich beschränkt) reversibel. Eine schädigende Wirkung wird bei allen Narkotika in einer Gelbfärbung wie bei H Cl sichtbar. Die dreifach längere Erholungsspanne bei Kalium dürfte wohl mit

der gegen Säure antagonistischen Wirkungsweise des K-Ions zusammenhängen.

Flüchtige Narkotika (offen ohne Deckglas)

Chloroform: Eine gesättigte, wässerige Lösung von Chloroform führt zu einer weitgehenden Verflüssigung des gesamten colloidalen Zellsystems. Eine starke, ungerichtete Plasmaströmung begleitet diesen Konsistenzwechsel. Nach Beendigung dieses Prozesses stellt sich eine Lähmung ein. War die Amoebe in Radiosaform, werden die Pseudopien wurstförmig aufgequollen, bei der Limaxform fließt die ganze Zelle wie Teig auf der Unterlage auseinander.

Aether: Bei einer 5 % Aetherlösung ist der Wirkungserfolg derselbe wie oben, nur scheint das Ectoplasma der Herabsetzung seiner Viscosität einen größeren Widerstand entgegenzusetzen. Vollständige Strömungslosigkeit tritt nicht ein, weder bei Chloroform noch bei Aether.

Die in dem offenen Objektträger erfolgende Konzentrationsabnahme führt bei Aether nach 5 Minuten, bei Chloroform nach 30—50 Minuten zur Erholung.

Versuche mit „sensiblen Reizstoffen".

Essigsäure, Ammoniak, Senföl, Phenol wirken auf die sensiblen Nervenendigungen der höheren Organismen schon in sehr niederen Konzentrationen reizend. Es war die Frage, ob den niederen Organismen, denen ein Nervensystem mit Empfindungs- und Bewegungsnerven fehlt, die aber auf äußere Einwirkungen hin Formveränderungen vornehmen können, ebenfalls eine besonders starke Empfindlichkeit gegenüber diesen Reizstoffen zukommt. Es wurden Konzentrationen dieser Reizstoffe an den Amoeben untersucht, die an der Froschhaut eben reflexauslösend wirken.

Essigsäure n/30: Die organische Säure zeigt weniger starke Wirkung auf das Zelleiweiß wie Salzsäure. Die Plasmaströmung wird stoßartig, trotzdem entwickelt sich eine sehr pseudopodienreiche Form, die sich nach 40 Minuten zum Säureendzustand abrundet.

NH_4 OH 0.2 %: Ammoniak erzeugt eine kurze Lähmung, auf die plötzlich eine so rasche zentripetale Strömung einsetzt, daß es dabei zu mehrfachen Abschnürungen kommt. Die Zelle zerplatzt (30 Minuten).

0.02 % NH_4 OH: Auch hier macht sich zunächst eine Lähmung bemerkbar. Bald wird die Strömung in etwas matter Weise wieder aufgenommen. Die Form wird breit und plump. Zusehends wird dann die Strömung wieder besser, und Form und Strömung nähern sich dem Normalverhalten (20 Min.).

Senföl 1 : 10000: Die Strömung wird sofort stoßartig beschleunigt. Nach 20 Minuten fließt die Form auch teilweise aus oder bildet die bereits bekannten, homogenen Wurstpseudopodien. (Nach 1—2 Stunden Gelbfärbung.)

Phenol 0.05 %: Die Einwirkung spielt sich genau wie beim Senföl ab. Der größere Teil der Tiere erholt sich wieder, wobei aber eine leichte Granulaverdichtung zurückbleibt.

Die „sensiblen Reizstoffe" wirken also bereits in ihrer Grenzkonzentration für die sensiblen Nervenendigungen auch auf die Amoebe, aber durchweg die Zelle dabei gleichzeitig stark schädigend.

Versuche zur gerichteten Reizung.

Es wurde weiter versucht, durch einseitige Einwirkung unserer Stoffe auf die Amoebe die Beziehungen aufzuklären, die etwa zwischen den in unseren bisherigen Versuchen beobachtenden ungerichteten Erregungserscheinungen und den bekannten gerichteten „chemotaktischen" Effekten bestehen.

Versuchsanordnung: Die Versuche wurden in Kammern angestellt, die durch Aufkleben zweier Deckgläser auf einen Objektträger hergestellt waren. Zwischen den beiden Deckgläsern wurde ein etwa 3 mm breiter Spalt freigelassen. Der Spalt wurde mit einem Deckglas und Vaseline abgedichtet; darauf wurde die Kammer mit einem Tropfen Nährlösung, der die Amoeben enthielt, beschickt, eine der beiden Oeffnungen darauf verschlossen und das zu untersuchende Mittel nun von der andern Oeffnung zum Hineindiffundieren gebracht. Es wurden zunächst nichtschädi-

gende Konzentrationen verwendet. Irgendein Reizerfolg wurde dabei weder in positiv- noch in negativgerichteter Bewegung beobachtet. Lediglich gegenüber ihrer normalen Nährlösung zeigten die in destilliertem Wasser aufgeschwemmten Amoeben eine deutliche positive Chemotaxis.

Nunmehr wurden die Stoffe in Konzentrationen zugegeben, die nach unseren obigen Versuchen bei längerer Einwirkung irreversibel schädigend sind:

Na OH N/10: In Richtung auf die zugegebene Lauge wird ein massiges Pseudopodium ausgebildet; die Strömung wird bald ungeordnet und matt; plötzlich aber wendet sie sich mit zunehmender Lebhaftigkeit nach der entgegengesetzten Seite und dann entwickelt sich allmählich das typische Bild der allgemeinen Laugenwirkung.

H Cl N/10: Die Antwort auf den Reiz erfolgt in einer heftigen Austreibung von Pseudopodien nach dem Agens zu. Bald nimmt aber die Strömung ab, wird ungerichtet und hört dann auf (Säureendzustand).

Na Cl (Kristalle): Aehnliche aber nicht so prompte Reaktion wie bei H Cl, keine Plasmaquellung.

Dieselben Reizversuche wurden auch an narkotisierten Amoeben durchgeführt; mit 0,5 % Urethan ruhiggestellte Amoeben zeigten prinzipiell denselben Reizerfolg, nur deutlich langsamer. Bis zur Kugelform, aber noch reversibel narkotisierte Zellen ergaben keine Reaktion mehr.

Zusammenfassung

Zucker, NaCl, KCl, Säure, Lauge, Narkotika, Lokalanästhetika und einige sensible Reizstoffe wurden, von unwirksamen bis abtötenden Konzentrationen, auf Amoeba proteus zur Einwirkung gebracht, um das Verhältnis ihrer funktionellen, d. h. noch reversiblen Wirkungen zu ihren toxischen irreversiblen festzustellen.

Den einzelnen Stoffen kommen zwar einigermaßen charakteristische Wirkungsbilder zu. Hochtoxische Konzentrationen führen jedoch bei den untersuchten Stoffen, mit Ausnahme der Lauge, schließlich zum gleichen Bild des Absterbens; am besten kommt dieses Bild beim Säuretod der Amoeben zum Ausdruck, wird aber auch beim spontanen Absterben alter Kulturen gesehen. Es besteht in Aufhören der Plasmaströmung, Uebergang in Kugelform, Verdichtung und Gelbfärbung der Granula, später Zerfall der Zelle und allmähliche Auflösung der zerfallenen Masse. Bei Einwirkung reversibel wirkender Konzentrationen kommt es ebenfalls zu gewissen gleichartigen Erscheinungen, insofern als regelmäßig, selbst bei Narkotika eine anfängliche und kurzdauernde Anregung der Protoplasmaströmung, zum Teil auch der locomotorischen Bewegung eintritt. Die Reversibilität der so „reizend" wirkenden Konzentrationen ist zeitlich beschränkt; bei allen eine solche Reizung bewirkenden Konzentrationen kommt es schließlich zu einer Dauerschädigung.

Bei einseitiger Zuführung des Agens erfolgt dieser Reizeffekt zunächst in Richtung auf das Agens zu; mit Ausgleichung des Konzentrationsgefälles kommt es zu einer allgemeinen Anregungswirkung ungerichteter Art; nur bei Lauge schlägt die positiv chemotaktische Reizung zunächst noch in eine deutlich negative, d. h. vom Agens weggerichtete Bewegung um. Auch hier wirken nur Konzentrationen, die mit der Zeit zum Tod der Amoeben führen.

Wir schließen aus diesen Beobachtungen, daß sowohl der vorübergehende ungerichtete Reizeffekt bei genereller Einwirkung, wie der gerichtete Reizeffekt bei einseitiger Einwirkung auf die Amoebe durch eine lokalisierte Störung der Zellmembran ausgelöst wird, somit gewissermaßen eine „unspezifische Reaktion" der Zelle darstellt.

Literaturverzeichnis

Brinley, Floyd John: The effect of chemicals on viscosity of protoplasm of Amoeba as indicated by brownian movement. Protoplasma 4, 177, 1923.

Chamblers, Robert, and Paul Reznikoff: Micrurgial study in cell physiology I. The action of chlorids of Na, K, Ca and Mg on the protoplasm of Amoeba proteus. Journal of gen. physol. 8, 369, 1925.

Edwards, J. Graham: The relation of certain reagents on amoeboid movement. Brit. journ. of exp. biol. 1, 571, 1924.

— —: The effect of chemicals on locomotion in Amoeba. Reaction to localized stimulation. Anat. record. 23, 127, 1922.

Heilbrunn, L. V. and Kathryn Daugherty: A further study of the action of pottassium on Amoeba protoplasm. Journ. cellular Physiol. 5, 207, 1934.

Hopkins, D. L.: The effects of certains physical and chemical factors on locomotion and other life processes in Amoeba proteus. Journ. of Morph. and Physiol. 45, 97, 1928.

— —: The effect of hydrogen. ion concentration on locomotion and other life processes in Amoeba proteus. Proc. of the nat. acad. of sciences 12, 311, 1926.

Jensen, P.: Die Protoplasmabewegung. Erg. der Physiol. (Biophysik und Psychophysik) 1, 1, 1902.

Lepeschkin, W. W.: Ueber den Zusammenhang zwischen mechan. und chem. Schädigungen des Protoplasmas und die Wirkungsart einiger Schutzstoffe. Protoplasma 2, 239, 1927.

Mast, S. O.: Mechanics of locomotion in Amoeba proteus with special reference to the factors involved in attachement to the substratum. Protoplasma 8, 344, 1929.

Mast S. O. and Hulpieu, H. R.: Variation in the response to light in Amoeba proteus with special reference to the effects of salts and Hydrogen — ion concentration. Protoplasma, 11, 412, 1930.

Mast, S. O. and C. L. Prosser: Effect of temperature, salts, and hydrogen ion concentration on rupture of the plasmagel sheet, rate of locomotion and gel-sol ratio in Amoeba proteus. Journ. cellul. Physiol. 1, 333, 1932.

Reznikoff, Paul: Micrurgial studies in cell physiology V. The antagonism of cations on their actions on the protoplasm of Amoeba dubia. Journ. of. gen. Physiol. 11, 221, 1928.

Spek, Josef und Robert Chamblers: Das Problem der Reaktion des Protoplasmas. Protoplasma 20, 376, 1933.

Spek, Josef: Die Protoplasmabewegung, ihre Haupttypen, ihre experimentelle Beeinflussung und ihre theoretische Erklärung. Handb. der normalen und patholog. Physiol. 8, 1, 1925.

Verworn, M.: Allgemeine Physiologie, 1906.

Whitehouse, Stanley: Amoeboid motion as the produkt of protein-swelling. Science 1, 325, 1931.

Am 27. November 1913 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Gluns in Rottweil geboren. 1932 legte ich am Gymnasium in Rottweil die Reifeprüfung ab. Meine Studienzeit verbrachte ich in Würzburg und Tübingen, wo ich am 19. November 1937 das medizinische Staatsexamen beendete.

Hermann Gluns.